

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-304793

(43)Date of publication of application : 05.11.1999

(51)Int.Cl.

G01N 33/15  
A61B 5/16  
A61B 10/00  
G01N 33/48

(21)Application number : 10-117267

(71)Applicant : TAISHO PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 27.04.1998

(72)Inventor : YOKOGOSHI HIDEHIKO  
KITAJIMA HIDEAKI  
TSUNODA KENJI

## (54) METHOD FOR EVALUATING MENTAL FATIGUE REFRESHING SUBSTANCE

### (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To evaluate a mental fatigue refreshing substance to be tested, by loading a stress to a human animal to which the substance to be tested is administered, and measuring a change in concentration of one or two or more kinds of amino acids selected from taurine, leucine, isoleucine and valine in blood caused by the application of the stress.

SOLUTION: A stress is loaded after a sample to be tested is administered to a model animal, and an increase in concentration of any of taurine, leucine, isoleucine and valine in the blood of the model animal at this time is measured. A mental fatigue refreshing sample to be tested can be evaluated or a mental fatigue refreshing substance can be searched in this manner. Alternatively, the sample to be tested is administered to the model animal after the stress is loaded to the model animal, and whether or not the concentration increase of any of taurine, leucine, isoleucine and valine caused by the stress is recovered is checked, whereby a mental fatigue refreshing substance to be tested can be evaluated or a mental fatigue refreshing substance can be searched.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

14.04.2005

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-304793

(43) 公開日 平成11年(1999)11月5日

(51) IntCl. <sup>6</sup>	識別記号	F I
G 0 1 N 33/15		G 0 1 N 33/15 Z
A 6 1 B 5/16	3 0 0	A 6 1 B 5/16 3 0 0 B
10/00		10/00 X
G 0 1 N 33/48		G 0 1 N 33/48 N

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願平10-117267

(22) 出願日 平成10年(1998)4月27日

(71) 出願人 000002819

大正製薬株式会社

東京都豊島区高田3丁目24番1号

(72) 発明者 横越 英彦

静岡県静岡市谷田52番1号 静岡県立大学  
内

(72) 発明者 北島 秀明

東京都豊島区高田3丁目24番地1号 大正  
製薬株式会社内

(72) 発明者 角田 健司

東京都豊島区高田3丁目24番地1号 大正  
製薬株式会社内

(74) 代理人 弁理士 北川 富造

(54) 【発明の名称】 抗精神疲労活性物質の評価方法

(57) 【要約】

【課題】 再現性がよく、しかも簡便な抗精神疲労活性物質または精神疲労改善物質の評価方法を提供する。

【解決手段】 非ヒト動物の血液中のタウリン、ロイシン、イソロイシン、バリンの各濃度を測定することにより、該濃度を指標として、抗精神疲労活性物質または精神疲労改善物質の評価を行う。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 被験物質を投与した非ヒト動物にストレスを負荷することにより生ずる、該動物の血液中のタウリン、ロイシン、イソロイシン、およびバリンよりなる群から選ばれる1種または2種以上のアミノ酸濃度の変化を測定することを特徴とした、被験物質の抗精神疲労活性の評価方法。

【請求項2】 ストレスを負荷した後の非ヒト動物に被験試料を投与することにより生ずる、該動物の血液中のタウリン、ロイシン、イソロイシン、およびバリンよりなる群から選ばれる1種または2種以上のアミノ酸濃度の変化を測定することを特徴とした、被験物質の精神疲労改善活性の評価方法。

【請求項3】 非ヒト動物がラットまたはマウスの何れかである、請求項1または請求項2に記載の評価方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、簡便でかつ効率の良い、被験物質の抗精神疲労活性または精神疲労改善活性の評価方法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】一般に、生体は肉体的運動によって局所的な筋肉疲労もしくは全身的な疲労を知覚するが、いわゆるストレスが生体に負荷された場合、肉体的運動を伴わなくても疲労を知覚することが経験的に認められる。このようなストレス負荷に起因して知覚される疲労は、一般に精神疲労と呼ばれる。

【0003】即ち、精神疲労とは、肉体的運動時に知覚される疲労とは異なり、生体が異常環境下に置かれたり、精神的に抑圧されまたは刺激されたりする際に知覚する疲労を意味するものである。異常環境としては、不快な高温又は低温などの温度異常、大音量や不快な騒音、極度の明暗、身体の痛み、身体の拘束等が、また精神的な抑圧または刺激には不安、興奮、緊張の持続等が挙げられる。

【0004】最近では、このような精神疲労の蓄積を、種々の生理学的要因を測ることにより客観的に認識する方法が開発されてきている。

【0005】例えば、筋肉中の乳酸、3-メチルヒスチジン及びコルチコステロンの濃度を測る方法や、筋肉中のリン酸化化合物の動態を測る方法、さらには、味覚の変化に着目した疲労度の測定方法などがある（特開平9-77688）。

【0006】また、精神疲労の予防あるいは解消に利用し得るものとして、動植物由来の生薬、ビタミン類、アミノ酸類等が、飲食品や医薬品として使用されまたは提唱されている。これら精神疲労の予防に利用し得るもの（これを抗精神疲労活性物質とする）、あるいは精神疲労の解消に利用し得るもの（これを精神疲労改善物質とする）の探索は、現在もなお広く行われている。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、上記の公知の精神疲労の測定方法は、いずれも手段が煩雑であったり技術の熟練が要求されることが多く、かつ測定で得られたデータの解釈も難しいものであった。そのため、多数の被験物質を短時間で処理する必要がある抗精神疲労活性あるいは精神疲労改善活性の評価、ひいては抗精神疲労活性物質あるいは精神疲労改善活性物質の探索には、満足できるものではなかった。また、従来の方法では、精神疲労の蓄積度合いを定量的に表現することについても、十分なものではなかった。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、より簡便でかつ定量性に優れた精神疲労に関する測定方法の開発を試みた。その過程において、生体にストレスが負荷されると、タウリン、ロイシン、イソロイシン、およびバリンの血液中の濃度が有意に変化することを見出し、かかる知見をもとに本発明を完成した。

【0009】すなわち本発明は、被験物質を投与した非ヒト動物にストレスを負荷することにより生ずる、該動物の血液中のタウリン、ロイシン、イソロイシン、およびバリンよりなる群から選ばれる1種または2種以上のアミノ酸濃度の変化を測定することを特徴とした、被験物質の抗精神疲労活性の評価方法である。

【0010】またもう一つの発明は、ストレスを負荷した後の非ヒト動物に被験試料を投与することにより生ずる、該動物の血液中のタウリン、ロイシン、イソロイシン、およびバリンよりなる群から選ばれる1種または2種以上のアミノ酸濃度の変化を測定することを特徴とした、被験物質の精神疲労改善活性の評価方法である。

【0011】本発明者らは、生体にストレスが持続的に負荷されていく過程で、血液中のアミノ酸濃度にどのような変化が現れるかを調べた。その結果、タウリンの血中濃度はストレス負荷直後に急激に上昇する一方、その後もストレスを持続的に負荷させるとストレス負荷直後に上昇した血中濃度が一転して減少していくことが明らかとなった。また、生体にストレスが負荷される限り、タウリンの血中濃度はストレス無負荷時の濃度まで下がることなく有意に高濃度を保つことも明らかとなった。

【0012】このことは、ストレスが負荷されたモデル動物の血液中でのタウリン濃度を測定することにより、生体にストレスが負荷されたか否かを、客観的に調べることができることを意味する。

【0013】即ち、モデル動物の平常時の血液中に含まれるタウリン濃度を予めまたは同時に測定し、かかる平常時のタウリン濃度に比べてどの程度タウリン濃度が上昇しているかを確認することで、精神疲労の発生を調べることができる。

【0014】一方、ロイシン、イソロイシン、バリンの血中濃度は、ストレス負荷初期時にストレス無負荷時よ

り有意に上昇するとともに、その後数日にかけて漸次増加していくが、ストレス負荷開始から数日後に減少に転ずる挙動を示すことが明らかとなった。しかし、これらのアミノ酸の血中濃度は、ストレス負荷の何れの段階でも、無負荷時に比べて有意に高い値を示すものであった。

【0015】このことは、ストレスが負荷されたモデル動物の血液中のロイシン、イソロイシン、バリンの何れかの濃度を測定することで、生体にストレスが負荷されたか否かを、客観的に調べることができることを意味する。

【0016】即ち、モデル動物の平常時の血液中に含まれるロイシン、イソロイシン、バリンの何れかの濃度を予めまたは同時に測定し、かかる平常時のロイシン、イソロイシン、バリンの何れかの濃度に比べてどの程度濃度が上昇しているかを確認することで、精神疲労の発生とその蓄積を調べることができる。

【0017】特に血液中のタウリン濃度と、ロイシン、イソロイシン、またはバリンのいずれか1以タウリン濃度と、ロイシン、イソロイシン、またはバリンのいずれか1以上上の濃度とを同時に測定することにより、精神疲労の蓄積度合いを客観的に測ることができる。

【0018】本発明は、上述の血液中の濃度の測定を利用したものである。本発明によれば、モデル動物に対して被験試料を投与した後にストレスを負荷し、その際のモデル動物の血液中のタウリン、ロイシン、イソロイシン、またはバリンのいずれかの濃度の増加を測定することで、被験試料の有する抗精神疲労活性を評価し、または抗精神疲労活性物質を探索することができる。また、本発明によれば、モデル動物にストレスを負荷した後に被験試料を投与して、ストレスにより生じたタウリン、ロイシン、イソロイシン、またはバリンのいずれかの濃度の増加が回復するか否かを調べることで、被験物質の精神疲労改善活性を評価し、または精神疲労改善物質の探索を行うことができる。

【0019】

【発明の実施の形態】本発明で使用する事ができる非ヒト動物としては、哺乳類動物であれば特に制限はないが、特に実験の利便性から動物実験に汎用されるウイスター(wister)系ラット、SD(Sprague-Dawley)系ラット、d d Y系マウス、ICR系マウスが特に好ましい。

【0020】本発明において非ヒト動物に対してストレスを負荷する方法としては、非ヒト動物の身体を拘束して水に浸す方法(拘束水浸ストレス)や、コミュニケーションボックス、宙づり、拘束、条件付けストレス等が挙げられる。

【0021】本発明における血液中のタウリン、ロイシン、イソロイシン、またはバリンの濃度の測定は、生体から採取された血液を遠心分離して調製される血清を割

定試料とすることが好ましい。測定は、この試料をもとに高速液体クロマトグラフ(HPLC)を用いて行うことができる。その際使用できるカラムは、アミノ酸の検出に使用できるカラムであればよく、例えば資生堂製カプセルバックUG120や、エイコム社製バックドカラムMA-50DS等が挙げられる。また、同様の測定は市販されているアミノ酸自動分析機を用いて行うこともできる。この測定方法は使用する機器の取扱説明書に従って処理すればよい。

【0022】その他、本発明においてはアミノ酸濃度を検出、測定できる方法であれば、その測定方法には特別な制限はない。

【0023】

【発明の効果】本発明により、再現性がよく、しかも、簡便な精神疲労の蓄積予防、解消または低減作用を有する抗精神疲労活性物質または精神疲労改善物質の評価、検出に使用できる。

【0024】

【実施例】以下、実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明する。

【0025】<実施例1>ウイスター系ラット(雄、6週齢)14匹を用い、試験食として20%カゼイン食を7日間投与して飼育した。その後ラットを2群に分け、一方の群にのみラットの体を網で縛り26℃の水浴に1日当たり7時間浸水させる拘束水浸ストレスを負荷し、これ以外は両群のラットを同一の条件下でさらに7日間飼育して、拘束水浸ストレスを負荷する前、および負荷開始後1日後、3日後、7日後に各群のラットから血液を採取した。

【0026】採取した血液中のアミノ酸濃度は以下の操作により測定した。採取した血液から遠心分離操作(1,800×g、10分間)で調製した血清に、3%スルホサリチル酸を血清と同量添加し、4℃で24時間放置後、さらに遠心分離(11,600×g、10分間)し、得られた上澄を分取した。これを、0.45μmのメンブランフィルターで濾過し、濾液を日立製作所(株)製全自動アミノ酸自動分析機(L-8500)を用いてアミノ酸の濃度を測定した。その結果を図1に示す。

【0027】被験ラットに対して拘束水浸ストレスを負荷させると、ストレス負荷開始直後から血液中のタウリン、ロイシン、イソロイシン、バリンの各濃度は有意に変化し、ストレス負荷の回数に応じて血液中の各アミノ酸濃度が変化していくことが確認された。

【図面の簡単な説明】

【図1】は、拘束水浸ストレスを負荷したラットと、同ストレスを負荷しないラットのそれぞれにおける、血液中のタウリン、ロイシン、イソロイシン、バリンの各濃度変化を示した図である。

【図1】

